

Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10120

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:618:616-07:616-036.4.636:8

## Sexual cycle of cats and non-invasive diagnostic methods

O. V. Burlakova, V. Y. Stefanyk

Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 01.02.2021

Received in revised form

04.03.2021

Accepted 05.03.2021

Stepan Gzhyskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarskaya Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-096-905-47-66  
E-mail: zooprofi@ukr.net

**Burlakova, O. V., & Stefanyk, V. Y. (2021). Sexual cycle of cats and non-invasive diagnostic methods. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 23(101), 124–132. doi: 10.32718/nvlvet10120**

Mostly all feral cats are listed in the IUCN International Red Book. This fact is caused by the negative impact of civilization on the ecosystem, including fauna. This trend applies equally to feral cats from the family Felidae (tigers, jaguars, leopards, snow leopards) and the family Felinae (caracal, serval, ocelot, etc.). The low population size of domestic species, namely lynx and forest cat in Ukraine, is alarming. The use of innovative biotechnological techniques in reproduction can have a positive effect on the conservation of endangered carnivorous species. These auxiliary methods are aimed at improving the technique of obtaining and cryopreservation of sperm, oocytes, in vitro fertilization, artificial insemination, embryo transplantation, as well as synchronization and regulation of the sexual cycle. This last element is key in ex situ conservation programs in zoos. Under physiological course, feline reproductive cycle is unique, as the physiology of the body as a whole. The wild cat family is the pinnacle of predator evolution. Today there are 39 species of this family in the world, including the domestic cat. Most feral cats are endangered. The main reasons for the decline in wild cat populations in the wild are habitat loss, fragmentation, human-animal conflict, and for some species, poaching for fur and medicine. Therefore, many scientists in the world face the issue of increasing reproductive capacity, improving methods of monitoring reproductive function and endocrine status, as different species of cats have significant differences in the sexual cycle. The main purpose of the work is to improve the reproductive properties in the reproduction of wild cats using non-invasive diagnostic methods. Reproduction is a key success factor, so understanding the basics of the reproduction function will help develop strategies to conserve and influence populations of different feline species.

**Key words:** wild feline, cat, feline reproduction, sexual cycle of cats, non-invasive diagnostic methods, sex hormones.

## Статевий цикл котячих та неінвазивні методи діагностики

О. В. Бурлакова, В. Ю. Стефаник

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Практично усі дикі котячі знаходяться в міжнародній червоній книзі IUCN. Цей факт спричинений негативним впливом цивілізації на екосистему, в тому числі на фауну. Ця тенденція однаково стосується як диких котів з родини Felidae (тигрів, ягуарів, леопардів, сніжних барсів), так і родини Felinae (каракала, сервала, оцелота, і т.д.). Викликає тривогу низька чисельність популяції вітчизняних видів, а саме рисі та лісового kota в Україні. Застосування інноваційних біотехнологічних методик у відтворенні можуть дати позитивний результат у збереженні зникаючих видів м'ясоїдних. Ці допоміжні методи спрямовані на вдосконалення техніки отримання і кріоконсервації сперми, ооцитів, запліднення in vitro, штучного осіменіння, трансплантації ембріонів, а також синхронізації та регуляції статевого циклу. Цей останній елемент є ключовим в програмах охорони ex situ в зоопарках. За фізіологічним перебігом репродуктивний цикл котячих є унікальним, як і фізіологія організму в цілому. Сімейство диких котячих є вершиною еволюції хижаків. На сьогоднішній день в світі налічується 39 видів представників цього сімейства, в тому числі і домашня кішка. Більшість диких кішок знаходяться під загрозою зникнення. Основні причини скорочення популяції диких кішок в природі – це втрата середовища існування, фрагментація, конфлікт між людьми і тваринами, а для деяких видів, браконьєрство

заради хутра та ліків. Тому перед багатьма вченими в світі стоїть питання підвищення репродуктивної здатності, удосконалення методик моніторингу репродуктивної функції та ендокринного статусу, так як різні види кошачих мають суттєві відмінності в перебігу статевих циклів. Основна мета роботи – покращити репродуктивні властивості при відтворенні диких котятів використовуючи неінвазивні методи діагностики. Розмноження є основним фактором успіху, тому розуміння основ функції відтворення допоможе розробити стратегії для збереження і впливу на популяції різних видів котятів.

**Ключові слова:** дикі котяті, кішка, репродукція котятів, статевий цикл кішок, неінвазивні методи діагностики, статеві гормони..

## Вступ

За фізіологічним перебігом репродуктивний цикл котятів є унікальним, як і фізіологія організму в цілому. Сімейство диких котятів є вершиною еволюції хижаків. На сьогоднішній день в світі налічується 39 видів представників цього сімейства, в тому числі і домашня кішка (Nowell & Jackson, 1996). Більшість диких кішок знаходяться під загрозою зникнення. Основні причини скорочення популяції диких кішок в природі – це втрата середовища існування, фрагментація, конфлікт між людьми і тваринами, а для деяких видів, браконьєрство заради хутра та ліків (Wilting et al., 2007). Тому перед багатьма вченими в світі стоїть питання підвищення репродуктивної здатності, удосконалення методик моніторингу репродуктивної функції та ендокринного статусу, так як різні види кошачих мають суттєві відмінності в перебігу статевих циклів (Trigo et al., 2013).

Основна мета роботи – покращити репродуктивні властивості при відтворенні диких кішок використовуючи неінвазивні методи діагностики. Розмноження є основним фактором успіху, тому розуміння основ репродукції допоможе розробити стратегії для збереження і впливу на популяції різних видів котятів.

За основу фізіологічного перебігу статевих циклів кошачих прийнято використовувати домашню кішку, так як вона давно слугує моделлю для вивчення фізіології та репродукції диких кошачих (Howard et al., 1992). Домашні кішки відносяться до поліестральних тварин, феномен овуляції у яких полягає у її індукції під час статевих актів. Вони можуть досягати фізіологічної багатоплідної вагітності впродовж усього року, що дає їм змогу бути найплодовитішими з усіх видів домашніх тварин (Howard et al., 1996).

Кішки як і інші тварини набувають здатності до розмноження тільки при досягненні **статевої зрілості**. Вона починається з настанням першого статевих циклів у самки або виділення сперми у самця. Здатність до відтворення настає поступово. Поряд із загальним ростом і розвитком тварини швидко, але рівномірно росте і дозріває гіпофіз, гормональний вплив якого на яєчники викликає їх збільшення і провокує ріст та розвиток фолікулів у них. Фолікули, які дозрівають, виробляють статеві гормони (естрогени), котрі забезпечують ріст і розвиток матки й інших ділянок статевих шляхів Ці зміни приводять статевий апарат самки в стан функціональної готовності, зовнішнім проявом якої є перша течка і статеві охоти, а внутрішнім – овуляція фолікула в яєчнику. Статева зрілість у домашніх кішок настає у 4–12-місячному віці. На проявленні цієї зрілості можуть впливати багато факторів, а саме: порода кішок (відомий той факт, що

короткошерстні кішки досягають статевих зрілості раніше ніж довгошерсті), час народження (кошенята народжені у літню пору та восени досягають статевих зрілості в першу весну, у віці 5–6 міс., а кошенята народжені навесні досягають статевих зрілості тільки наступної весни в 12 міс). Терміни появи першого еструсу також залежать від стану організму, соціального середовища і особливостей їх харчування. Цікавим є той факт, що кішки на вільному виході досягають статевих зрілості раніше, ніж кішки, які проживають в квартирах без вільного виходу.

Статева зрілість проявляється завжди раніше ніж закінчується основний ріст і розвиток тварини. Використання тварин для відтворення зразу ж після настання статевих зрілості негативно позначається не тільки на самих тваринах, але й на їх нащадках. У них недостатньо розвинена статеві і імунна системи, таз і молочна залоза. **Фізіологічна зрілість** характеризується завершенням формування організму і досягненням твариною 70 % живої маси, властиві дорослим тваринам даної породи і статі. Тільки фізіологічно зрілих тварин можна використовувати для відтворення. Кішки досягають фізіологічної зрілості у віці 10–12 міс. Максимальна репродуктивна здатність досягається у віці від 2–8 років. Зниження репродуктивної функції настає до 10-річного віку (England & von Heimendahl, 2010).

При досягненні статевих зрілості статевий апарат самки підпорядковується певному функціональному ритму, в основі якого лежать процеси дозрівання фолікулів, овуляції домінуючих фолікулів з наступним розвитком жовтих тіл в яєчниках синхронно зі змінами слизової оболонки матки. Всі ці процеси проходять взаємопов'язано, мають циклічний характер і спрямовані на створення сприятливих умов для транспорту статевих клітин у статевих органах самки, запліднення і розвиток вагітності.

**Статевий (оваріальний) цикл** (рос. половой цикл, англ. thesexualcycl, фр. cusciovarienne) – сукупність фізіологічних та морфологічних процесів в організмі статевозрілої самки, пов'язаних з розмноженням, які знаходяться під контролем нейрогуморальних механізмів регуляції і регулярно повторюються у сталому порядку протягом певного генетично закладеного проміжку часу.

Статевий цикл у кішок називають естральним (від грец. oestros – пристрасний потяг) притаманний для всіх ссавців за винятком людини. Він супроводжується **еструсною поведінкою**, за якою настає овуляція – вихід яйцеклітини з фолікула.

В залежності від типу овуляції кішок відносять до рефлекторно овулюючих тварин. Овуляція настає тільки після спарування, яке призводить до викиду

гіпоталамічного нейрогормона Гн-РГ, котрий діє на гіпофіз і викликає виділення ЛГ, а ЛГ діє на яєчник і викликає овуляцію.

Англійський вчений Уолтер Хіп що у 1898 р. описав 4 стадії статевого циклу: **Передтічкова** (proestrus), **Тічка** (oestrus, oestrus), **Післятічкова** (metoestrus, interoestrus), **Зрівноваження** (dioestrus s. anoestrus). Характеристика статевого циклу за У. Хіпом використовується і зараз у всьому світі.

**Проеструс і еструс** проявляються внаслідок розвитку фолікулів та збільшення рівня ФСГ та ЛГ. У окремих самок статева активність не проявляється в період проеструсу, а у інших є прояви статевих збудження які характерні для періоду еструсу, але кішки не проявляють позитивної реакції на кота. Під час еструсу при ретельному огляді тварину ми можемо спостерігати певні клінічні ознаки прояву цієї стадії, які характеризуються незначною припухлістю вульви. Також еструс характеризується підвищеним статевим збудженням, посиленою вокалізацією, проявом характерної пози (спинний лордоз), проявляються підвищені грумінгові звички, знижується апетит. Іноді при еструсі також спостерігається маркування сечею території. Деякі особини не проявляють ніяких змін поведінки при еструсі, поводити себе агресивно, або пасивно до партнера, навіть при підвищеному рівні статевих гормонів, це може бути пов'язано з ієрархією в зграї, недосвідченістю, неухважністю, стресом, що призводить до “тихої тічки” (Djul'ger, 2004).

Протягом всієї фази еструсу фолікули, які розвиваються, підтримують концентрацію естрогенів на високому рівні. Через 3–6 діб від початку еструсу та у випадку відсутності овуляції, фолікули піддаються атрезії та відповідно рівень естрогенів знижується, статева поведінка змінюється і кішка повертається в стадію інтереструсу.

**Овуляція.** Особливістю феномену овуляції у кішки є індукована овуляція. Для цього потрібна механічна стимуляція вульви та стінки піхви, що викликає активацію нейронів в гіпоталамусі та вивільнення ГнРГ, який у свою чергу викликає продукцію передньою долею гіпофіза ЛГ. Цей процес відбувається завдяки статевому акту, але овуляцію можна також викликати штучно, стимулюванням вульви ватним тампоном. Викид ЛГ відбувається через декілька хвилин після спарювання та найвищий його рівень досягає свого піку через 2–4 години. У деяких кішок овуляція може бути без статевих актів – “спонтанна овуляція”, стимуляція рецепторів відбувається при надмірному вилизуванні вульви при грумінгу, частіше зустрічається у вікових кішок в присутності кота (Shille et al., 1983).

**Лютеальна фаза.** Овуляція відбувається через 24–48 годин після спалаху ЛГ, відповідно концентрація естрогенів значно знижується. Тривалість фази еструсу у кішок, які овулювали, коротша від тих, у яких овуляція не відбулася. Процес запліднення відбувається в яйцепроводах, потім ембріони мігрують через 3–4 доби після овуляції в порожнину матки. ЛГ не

тільки викликає овуляцію, але й стимулює розвиток і функціонування жовтих тіл, які продукують прогестерон. На початковому етапі лютеальної фази профіль прогестерону у сироватці крові вагітних і невагітних кішок які овулювали не відрізняється. Встановлено різниця у тривалості продукції прогестерону а, саме у вагітних кішок цей період довший, ніж у невагітних.

Лютеальна фаза статевих циклів у невагітних кішок складає приблизно половину терміну вагітності, і за нею не слідує обов'язковий анаеструс. Це дає змогу швидко повернутися до циклічної активності і збільшити шанси на успішне спарювання в період розмноження (Johnson & Gay, 1981).

**Період вагітності.** Рівень прогестерону в плазмі крові через 24 год після спалаху ЛГ та овуляції, швидко збільшується. Далі концентрація прогестерону починає зростати і досягає свого піку на 25-ту добу від моменту овуляції (рис. 1). Відбувається невелике зниження концентрації прогестерону та його рівень залишається сталим приблизно до 60-ї доби від моменту овуляції (England & von Heimendahl, 2010).

Окрім того через 24 год після овуляції починає збільшуватися рівень пролактину та на 50-ту добу досягає сталого рівня, за декілька діб до родів знову його рівень зростає (Banks et al., 1983).

Ще одним так званим гормоном вагітності є релаксин, який продукує плацента. Концентрація релаксину починає поступово збільшуватися з моменту імплантації ембріонів та поступово зростає досягаючи максимуму на 50 добу після овуляції. Релаксин може впливати на жовте тіло, опосередковано стимулює секрецію пролактину у гіпофізі або може стимулювати інші невідомі лютеотропні фактори. Цей гормон відповідає за розривлення сполучної тканини тазу для полегшення родового процесу (Stewart & Stabenfeldt, 1985).

Визначення рівня релаксину та пролактину можуть застосовуватися, як діагностичні тести при діагностиці з 30-ї доби вагітності, тому що у невагітних кішок підвищення їх концентрації не виявлено.

Рівень естрогенів знижується після овуляції та залишається на базальному рівні протягом вагітності. З 60-ї доби його концентрація зростає та перед родами знижується. До 10 % кішок можуть демонструвати так званий поведінковий еструс протягом 20–40-ї доби вагітності.

Кішкам притаманний феномен суперфекундації. Цей феномен характеризується такою особливістю коли декілька самців можуть спарюватися з однією кішкою та спермії різних самців запліднюють яйцеклітини під час однієї овуляції – це у свою чергу призводить до народження в одному приплоді кошенят від різних самців.

Незадовго до родів рівень прогестерону стрімко знижується. Це пов'язано з секрецією кортизола у плода. Цей процес характеризується зниженням температури тіла у кішки до 36,5 °C та є одним з передвісників родів (England & von Heimendahl, 2010).

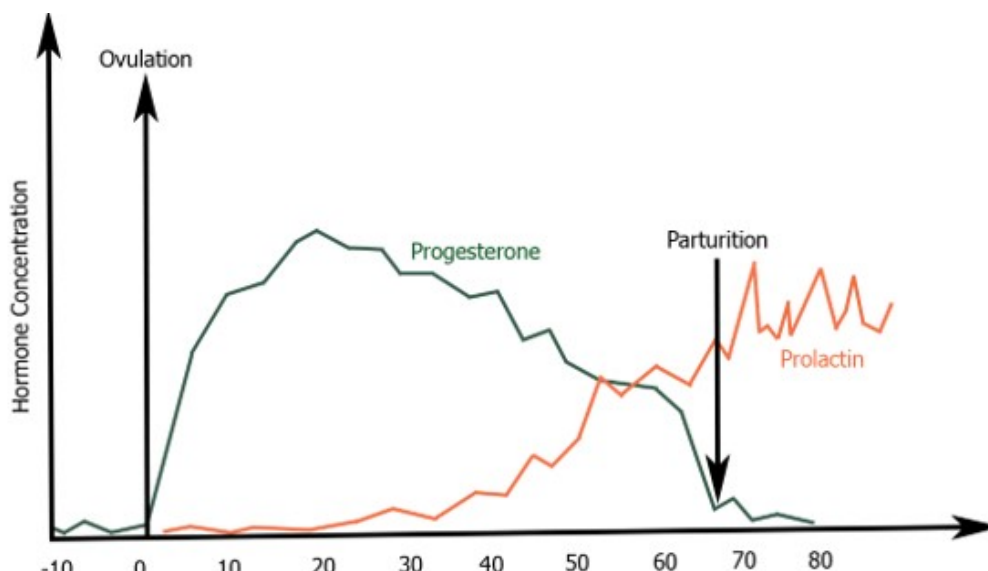


Рис. 1. Рівень гормонів при вагітності і при лактації у кішок  
(Gary England and Angelika von Heimendahl 2010)

**Псевдовагітність.** У кішок, які овулювали і не відбулося процесу запліднення, профілі рівня прогестерону на початкових етапах після еструсу не відрізняються від вагітних, так само рівень прогестерону збільшується і досягає свого максимуму на 25-ту добу від моменту овуляції. Далі рівень прогестерону знижується і досягає базальних значень на 30–40 добу (рис. 2). Вважається, що таке поступове зниження

прогестерону відбувається за рахунок відсутності специфічного для вагітності лютеотрофного фактору.

Концентрація пролактину не збільшується так само, як і рівень релаксину. Зовні псевдовагітність не проявляється, крім збільшення сосків у деяких особин. Поведінка також не змінюється. Фактично, єдиним клінічним проявом є відсутність циклічної активності, в порівнянні з кішками у яких була відсутня овуляція (Banks et al., 1983).

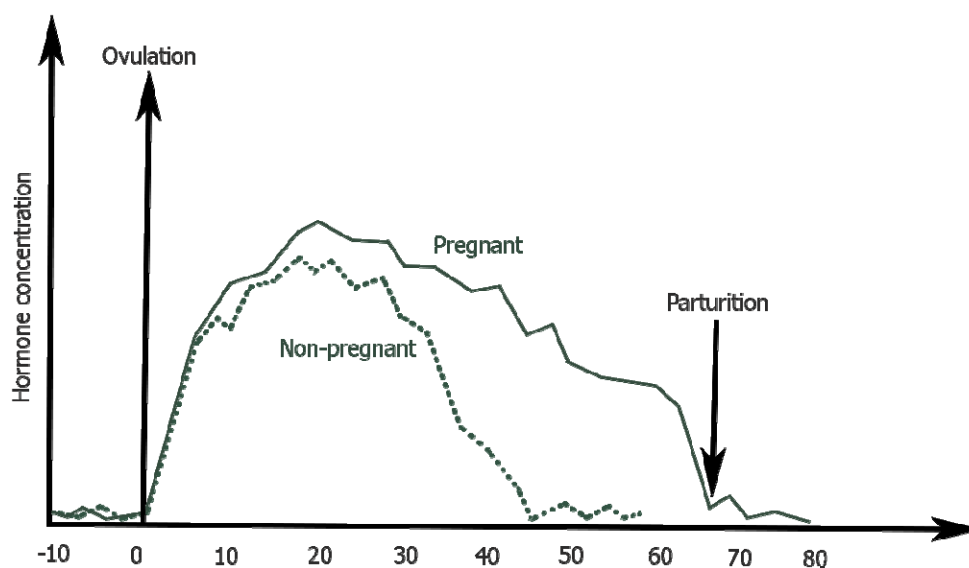


Рис. 2. Рівень прогестерону в лютеальну фазу при вагітності та псевдовагітності  
(Gar England and Angelika von Heimendahl 2010)

**Интереструс (метаеструс)** – це період, між одним еструсом та наступним у випадку якщо овуляція не відбулася. Впродовж цього часу концентрація естрогенів низька і прояви сексуальної поведінки відсутні. Тривалість інтереструсу різна, але найчастіше 8–21-а доба. В кінці інтереструсу збільшується секреція ЛГ і ФСГ, що призводить до проявлення еструсу і статевої активності (Wildt et al., 1998).

**Анеструс** – це відсутність циклічної активності яєчників, яка проявляється в період короткого світлового дня. Як уже зазначалося це пов'язано з секрецією мелатоніну. Під час анеструсу кішки не підпускають kota, проявляють агресію і уникають спілкування. Стадія анеструсу триває протягом 3–4 міс. Зимового періоду, коли тривалість світлової доби є коротша. Доведено, що секреція мелатоніну з шишкоподібної



залози відіграє важливу роль в регуляції статевого циклу. Цікаво, що концентрація як мелатоніну, так і пролактину збільшені в період коротшого світлового дня та нижчий їх рівень в період інтенсивного освітлення. В племінних популяціях з контрольованим режимом освітлення кішки можуть проявляти статеву активність і в зимовий період (Wildt et al., 1998).

**Статева циклічність** це чергування стадій статевого циклу і є нормою для всіх здорових кішок, що досягли статевої зрілості. Циклічність продовжується протягом усього життя до настання клімактеричного періоду.

Котячі розповсюджені в усьому світі. Від місця їх існування залежать і особливості репродуктивної функції. Базуючись на літературних даних, усі види котятих можна поділити за перебігом статевого циклу на моно-, оліго-, та поліестральні (табл. 1) (Najdenko, 2015). Види з моноестральним статевим циклом, як правило, проявляють еструс один раз на рік, олігоестральним – декілька разів, але впродовж певного періоду року, поліестральним відповідно декілька разів впродовж усього року. У окремих літературних повідомленнях вказується, що у ряду видів диких котятих характер статевих циклів одного й того ж виду може

змінюватися в залежності від існування у різних частинах ареалу (Najdenko, 2015). Види котятих з поліестральним статевим циклом в основному розміщуються в тропічних та екваторіальних широтах. Центри ареалів місць існування з олігоестральним розміщені в північніших і південніших широтах. У помірних широтах існують види з моноестральним циклом.

Так як різні види кошачих мають відмінності в перебігу статевого циклу виникла гостра необхідність в розробці методик для точної оцінки ендокринного статусу диких і зоопаркових тварин. Визначення репродуктивного статусу є одним із важливіших факторів ефективного керування зусиллями по використанню допоміжних репродуктивних технологій. Методи (штучного осіменіння, екстракорпорального осіменіння і / або пересадка ембріонів) залежать від точних знань основ репродуктивної фізіології даного виду. Для проведення ефективного штучного осіменіння, важливим елементом є визначення оптимального часу. У випадку коли дана методика застосовується у диких кошачих необхідною умовою є визначення рівня статевих гормонів тому для цього використовують неінвазивні методи діагностики (Schwarzenberger et al., 1996).

**Таблиця 1**

Поділ видів диких котятих за проявленням статевого циклу (Najdenko, 2015)

Тип статевих циклів	Види диких котятих	Літературні джерела
Моноестральні	Манул	Swanson et al., 1996
	Євразійська рись	Найденко, 2005
	Канадська рись	Fanson et al., 2010
	Сніжний барс	MacCarthy, Chapron, 2003
	Піренейська рись	Goritz et al., 2009
Олігоестральні	Китайська кішка	Sanderson et al., 2010
	Далекохідний кіт	Павлова, 2010
	Червона рись	Stys, Leopold, 1993
	Чорнонога кішка	Molteno et al., 1998
	Барханна кішка	Гептнер, Слудський, 1972
	Європейський лісовий кіт	Гептнер, Слудський, 1972
	Пампасська кішка	Silveira, 1995
Поліестральні	Хаус	Гептнер, Слудський, 1972
	Тигр	Byers et al., 1990
	Леопард	Cunningham, Gross, 2000
	Лев	Brown et al., 1996
	Гепард	Graham et al., 1995
	Оцелот	Brown, 2006
	Онцिला	Morais et al., 2002
	Кіт-риболов	Santymire et al., 2011
	Домашня кішка	Prescott, 1973
	Ягуар	Morato et al., 2004
	Димчастий леопард	Yamada, Durant, 1989
	Кішка Теммінка	Mellen et al., 1989
	Сервал	Sunquist, Sunquist, 2002
	Каракал	Bernard, Stuart, 1987
	Пума	Eaton, Verlander, 1977
	Бенгальська кішка	Adachi et al., 2010
	Мармурова кішка	Sunquist, Sunquist, 2002
	Ягуарунді	De Oliveira, 1998

Визначення концентрації статевих гормонів у сировотці крові є найбільш точним відображенням активності гонад. Ця методика широко використовується

для моніторингу репродуктивної функції і ендокринного статусу у тварин. Процес відбору крові у диких тварин характеризується негативними наслід-

ками – травматизацією і стресом (Putranto, 2011). У випадку діагностики вагітності іммобілізація може призвести до переривання вагітності, тобто є ризики як для материнського організму, так і для плоду.

**Радіоімунний аналіз (PIA).** З 80-х років XX століття почали використовувати неінвазійні методи відбору матеріалу для характеристики ендокринної функції у різних видів тварин включаючи і котятих з використанням сечі та калу (Lasley & Kirkpatrick, 1991; Schwarzenberger et al., 1996; Touma & Palme, 2005). Аналіз гормонів в екскрементах проводили за допомогою PIA аналізу. Радіоімунний аналіз (скор. PIA; англ. Radioimmunoassay, RIA), також називається радіоімуннологічний або ізотопний імунологічний аналіз – це метод кількісного визначення біологічно активних речовин в біологічних рідинах, заснований на конкурентному зв'язуванні стабільних речовин і аналогічних їм мічених радіонуклідом речовин зі специфічними зв'язуючими системами, з подальшою детекцією на спеціальних лічильниках – радіоспектрометрах.

Вперше метод був розроблений Соломоном Берсон і Розалін Сасмен Ялоу в 1950-х роках. За допомогою цього методу вони вивчали кліренс інсуліну у хворих на діабет. Р. Ялоу отримала за це Нобелівську премію в 1977 році.

Для мітки антигенів чи антитіл в більшості випадків використовується ізотоп йоду  $^{125}\text{I}$ , який має період напіврозпаду 60 днів і високу питому радіоактивність.

Моніторинг рівня естрогенів та прогестерону у фекаліях за допомогою PIA став рутинною процедурою в повсякденному контролі репродуктивного статусу у зоопаркових тварин (Brown, 2006; Schwarzenberger & Gogarten, 2007; Umapathy et al., 2013; Kumar et al., 2014) так як має свої переваги:

1. концентрація гормонів у плазмі крові протягом доби піддається коливанням і ситуативних варіацій концентрації, а концентрація метаболітів гормонів в екскрементах є інтегрованим сталим показником за період часу, що згладжує подібні коливання і в значній мірі спрощує аналіз даних (Pavlova & Najdenko, 2008);

2. проводиться з відсутністю стресу, травматизації та ризику для дослідника;

3. екскременти від тварин легко збирати без обмеження часу і періоду (Putranto et al., 2007; Putranto et al., 2007), а також піддавати заморозці для зберігання до проведення досліджень (Putranto, 2011).

Сеча та проби калу можуть бути зібрані для оцінки репродуктивного статусу у екзотичних тварин в неволі, але збір сечі характеризується труднощами у тварин, які знаходяться на вільному виході. Тому проби калу – найбільш практичний і інформативний метод відбору матеріалу для діагностики репродуктивного статусу диких котятих.

Визначення рівня статевих стероїдів в основному використовують для вивчення стану репродуктивної системи і надає інформацію про статевий цикл, вагітність, аборти, статеве дозрівання, репродуктивну

поведінку, сезонність і моніторинг лікувальних заходів (Schwarzenberger et al., 1996).

**Метаболізм гормонів.** Корм перетравлюється і виводиться з організму через ШКТ у вигляді відходів. Кал містить багато важливих фізіологічних сигналів, таких як статеві гормони і їх метаболіти. В основному статеві гормони синтезуються з холестерину і переносяться током крові зв'язаними зі специфічними білками-носіями, такими як глобулін, пов'язуючий статеві гормони; або глобулін, пов'язуючий кортикостероїди. Ці гормони діють на органи-мішені і перетворюються на різноманітні метаболіти за допомогою 5 $\alpha$ - або 5 $\beta$ -гідрогенази і 3 $\alpha$ - або 3 $\beta$ -он-стероїдегідрогенази, потім вони виводяться з сечею через нирки і з жовчю в кал (Putranto, 2011). 85–95 % метаболітів стероїдних гормонів виводиться з фекаліями у домашньої кішки (Brown, 2006). Зокрема, метаболіти прогестерону (P4) у домашніх кішок метаболізуються і виводяться в основному як кон'юговані і некон'юговані метаболіти з фекаліями (Brown et al., 1994). Повідомлялось, що у диких котятих, а саме у леопардової кішки (*Felis bengalensis*) і димчатого леопарда, метаболізм P4 може бути схожим і представляє собою майже один кон'югований метаболіт (більше 90 %). Однак у гепарда він був ідентифікований як три імунореактивні метаболіти, фракціонуючий у відсотковому співвідношенні 42:51:7 % відповідно (Brown et al., 1994).

Введення радіоактивно міченого естрадіолу – 17 і прогестерону домашнім кішкам показало, що 95 % метаболітів виводиться з калом в продовж 1–2 діб (Brown, 2006). Застосування високоефективних методик, а саме: рідинна хроматографія, газ хроматографія, мас-спектрометрія і аналізи імунореактивності виявили, що:

1. Фекальні естрогени складаються, в основному, з некон'югованих і кон'югованих (3-сульфат, 17-сульфат, 17-сульфат) естрадіолів, з незначною кількістю естроїна і естроїла.

2. Прогестерон метаболізується і виводиться, в основному, у вигляді полярних з'єднань (більше 75 %), можливо кон'юганти і деякі некон'юговані прегнани, які також можуть перехресно реагувати з антитілами при PIA (Brown et al., 1994).

Методика виділення метаболітів статевих гормонів з калових мас включає застосування кип'ятіння, перемішування і поєднання в комбінаціях з органічними розчинниками (етанол, метанол), які містять не менше 10 % води або буферу для кращого відновлення кон'югованих стероїдів (Brown, 2011).

Був доведений біологічний взаємозв'язок між рівнем статевих гормонів в плазмі та екскрементах. Результати аналізу стероїдів показали, що значне збільшення концентрації естрогену у фекаліях були пов'язані з поведінковим еструсом (Brown, 2011).

Природне спарювання / або введення хоріон гонадотропіну людини також були ідентифіковані наступним збільшенням концентрації метаболітів прогестерону в калі, що вказує на овуляцію і лютеїнізацію. Усі зміни рівнів стероїдів в екскрементах чітко корелювали зі змінами рівня стероїдів в периферичному крово-

обігу у котятих, які підлягали аналогічному лікуванню (Brown et al., 1994).

Таким чином визначення статевих гормонів у екскрементах є важливою методикою для вивчення репродуктивної функції котятих, а саме дає:

1. Характеристику естрального циклу.
2. Визначення спонтанної та індукованої овуляції.
3. Вивчення впливу сезону, а також цілого ряду інших чинників на репродуктивну функцію.

За останній час були досягнуті великі успіхи в розробці неінвазивних методів моніторингу функції яєчників у різних видів тварин за допомогою імунологічного аналізу метаболітів стероїдів в сечі і калі (Lasley & Kirkpatrick, 1991; Brown et al., 1994; Brown, 2006). Хоча радіоімунний аналіз (RIA) був переважаючим аналітичним методом, який використовували в минулому, його використання має багато недоліків (Brown, 2006). В RIA використовуються радіоактивні матеріали, використання яких потребує спеціальних ліцензій, спеціалізованого і дорогого обладнання для виявлення, а також небезпечні для здоров'я при використанні і утилізації реактивів (Lasley & Kirkpatrick, 1991).

**Імуноферментний аналіз (ІФА).** Імуноферментний аналіз (ІФА, англ. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) – імунологічний метод якісного або кількісного лабораторного визначення різних макромолекул, низькомолекулярних з'єднань, вірусів та ін. на основі специфічної реакції антиген-антитіло. Велика кількість достоїнств методу ІФА сприяли його широкому застосуванню в наукових дослідженнях різних галузей медицини, мікробіології та харчової промисловості, сільськогосподарства, охорони навколишнього середовища. Позитивними факторами даного методу є: простота методів реєстрації, висока стабільність реагентів, можливість створення каскадних систем з посилення різних хімічних сигналів та відносно низька ціна в порівнянні з іншими методами.

Отже, імуноферментні аналізи (ІФА) є кращими методами для проведення діагностики рівня стероїдів у фекаліях в зоопарках та в польових умовах, тому що вони виключають потребу в радіоактивних матеріалах і громісткому дорогому обладнанні. Як відомо прогестерон виводиться з екскрементами в більшості як некон'юговані метаболіти (прогестагену) і раніше в RIA використовувалися антитіла, які перехрестно реагували з різними прогестагенами. При ІФА на прогестерон у самок африканських слонів, чорного носорогу, білого носорогу, окапі і бегемотів використовували антитіла широкого спектру дії, які підходять для сироватки крові і також для фекалій. Чіткі профілі прогестагена, отримані у цих видів, доводять, що описаний ІФА буде таким ж універсальним, як і RIA, і може бути практичною і економічною альтернативою RIA для моніторингу функції гонад у зоопаркових тварин (Graham et al., 2001).

Було проведене вивчення концентрації прогестагену в фекаліях у гепардів за допомогою ІФА. Профілі прогестагена в калі були аналогічні профілю прогестерона в сироватці. Концентрації прогестагена в калі

і сировоточного прогестерону залишалися на базовому рівні до моменту статевих актів. В середньому профіль прогестагена в калі під час вагітності збільшився через 3–4 доби після спарювання і залишався високим до родів. При абортах рівень прогестагену відразу повертався до базового рівня. Щоб вивчити зміни компонентів метаболітів прогестагена при вагітності, фекальні прогестагени аналізували за рідинної хроматографії та ІФА. Дослідники дійшли висновків, що метод ІФА корисний для встановлення вагітності і моніторингу лютеїнової активності у вагітних гепардів (Adachi et al., 2011).

Інші дослідники вивчали репродуктивний статус самок амурських тигрів шляхом оцінки змін в калі під час природної активності яєчників і вагітності, а також визначали наявність прогестерона Р4 і типи метаболітів Р4, що виділяються організмом з калом. Вміст Р4 ієстрадіолу 17в (Е2) вимірювали за допомогою ІФА, а метаболіти Р4 розділяли за допомогою рідинної хроматографії. Результати ІФА показали, що під час природної активності яєчників кількість Е2 вказала на циклічні зміни. Кількість Р4 у невагітних тигриць не підвищувалась, а при вагітності значно збільшувалась відразу після статевих актів в 2–3 рази. Всі ці дослідження підтверджують можливість використання ІФА методів для того, щоб оцінювати активність яєчників, такі як лютеїнова фаза або фолікулярна активність (овуляція), за допомогою ендокринного моніторингу на основі естрадіолу – 17В і прогестерону у фекаліях (Putranto, 2011).

Одна з основних проблема при аналізі фекальних стероїдів виникає через інактивацію гормонів шлунково-кишковими бактеріями і екзогенними мікробами. Зразки фекалій необхідно зберігати не більше декількох годин після збору, а потім заморожувати, інактивуючи розвиток мікрофлори. Це є основною рекомендацією при зборі екскрементів. Але, на жаль, у польових умовах і віддалених районах це не завжди можливо, тому існують методи консервування фекалій в спиртах (етанолі, метанолі). Доведено, що спирти стабілізують фекальні естрогени і прогестерон, вбиваючи розвиток мікрофлори і інактивують пов'язані з ними ферменти, зберігаючи проби фекалій з естрогеном і прогестероном впродовж 21 год при різних температурах навколишнього середовища. А потім потрібно обов'язково заморозити до -20 °С. Це дає можливість більш широкого і зручного використання неінвазивних методик у польових умовах (Beehner & Whitten, 2004).

## Висновки

Визначення рівня стероїдів у фекаліях за допомогою ІФА відкрило нові можливості для вивчення репродуктивного статусу диких кошачих, впливу лікувальних препаратів на репродуктивну систему, можливості детальної оцінки причин неплідності. ІФА метод простий і можливий для виконання в наших умовах. Так як 90 % стероїдів у кішок виводиться з фекаліями, збір матеріалу спрощує аналіз, дозволяє проводити його без стресу для тварини, унеможли-

лює травматизацію і зменшує ризики для дослідника. Таким чином визначення рівня статевих гормонів у екскрементах є важливою методикою для вивчення репродуктивної функції котятих, яка надасть змогу покращити функцію відтворення у них.

## References

- Adachi, I., Kusuda, S., Kawai, H., Ohazama, M., Taniguchi, A., Kondo, N., Yoshihara, M., Okuda, R., Ishikawa, T., Kanda, I., & Doi, O. (2011). Fecal Progestagens to Detect and Monitor Pregnancy in Captive Female Cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Journal of Reproduction and Development*, 57(2), 262–266. doi: 10.1262/jrd.10-057T.
- Banks, D. H., Paape, S. R., & Stabenfeldt, G. H. (1983). Prolactin in the cat: I. Pseudopregnancy, pregnancy and lactation. *Biol. Reprod.*, 28(4), 923–932. doi: 10.1095/biolreprod28.4.923.
- Beehner, J. C., & Whitten, P. L. (2004). Modifications of a field method for fecal steroid analysis in baboons. *Physiology & Behavior*, 82(2–3), 269–277. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.03.012.
- Brown, J. L. (2006). Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology*, 66(1), 25–36. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.03.011.
- Brown, J. L. (2011). Female reproductive cycles of wild female felids. *Anim Reprod Sci.*, 124(3–4), 155–162. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.024.
- Brown, J. L., Wasser, S. K., Wildt, D. E., & Graham, L. H. (1994). Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biol Reprod.*, 51(4), 776–786. doi: 10.1095/biolreprod51.4.776.
- Djul'ger, G. P. (2004). *Akusherstvo, ginekologija i biotekhnika razmnoshenija koshek*. Uchebnoe posobie. M.: Kolos (in Russian).
- England, G., & von Heimendahl, A. (2010). *BSAVA Manual of Canine and feline reproduction and neonatology*. Second edition, 8–12.
- Graham, L., Schwarzenberger, F., Möstl, E., Galama, W., & Savage, A. (2001). A versatile enzyme immunoassay for the determination of progestogens in feces and serum. *Zoobiology*, 20(3), 227–236. doi: 10.1002/zoo.1022.
- Howard, J. G., Barone, M. A., Donoghue, A. M., & Wildt, D. E. (1992). The effect of preovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J. Reprod. Fertil.*, 96(1), 175–186. doi: 10.1530/jrf.0.0960175.
- Howard, J. G., Byers, A. P., Brown, J. L., Schwartz, R. J., Evans, M. Z., & Barrett, S. J. (1996). Successful ovulation induction and laparoscopic intrauterine artificial insemination in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Zoo Biol.*, 15, 55–69. doi: 10.1095/biolreprod56.4.1059.
- Johnson, L. M., & Gay, V. L. (1981). Luteinizing hormone in the cat. I. Tonic secretion. *Endocrinology*, 109(1), 240–246. doi: 10.1210/endo-109-1-240.
- Kumar, V., Reddy, V. P., Kokkilagadda, A., Shivaji, S., & Umamathy, G. (2014). Non-invasive assessment of reproductive status and stress in captive Asian elephants in three south Indian zoos. *Gen Comp Endocrinol*, 201, 37–44. doi: 10.1016/j.ygcen.2014.03.024.
- Lasley, B. L., & Kirkpatrick, J. F. (1991). Monitoring Ovarian Function in Captive and Free-Ranging Wildlife by Means of Urinary and Fecal Steroids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 22(1), 23–31. URL: <https://www.jstor.org/stable/20095115?seq=1>.
- Najdenko, S. V. (2015). *Biologija razmnoshenija koschachih: Mehanizmy povyshenija reproduktivnogo uspeha*. Dissertacija na soiskanie uchenoj stepeni doktora biologicheskikh nauk. Moskva (in Russian).
- Nowell, K., & Jackson, P. (1996). *Wild Cats. Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN/SSC Cat Specialist Group. IUCN, Gland. URL: <https://portals.iucn.org/library/node/6998>.
- Pavlova, E. V., & Najdenko, S. V. (2008). Neinvazivnyj monitoring gljukokortikoidov v ekskrementah dal'nevostochnogo lesnogo kota (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). *Zoologicheskij zhurnal*, 87(11), 1375–1381 (in Russian).
- Putranto, H. D. (2011). A non-invasive identification of hormone metabolites, gonadal event and reproductive status of captive female tigers. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 12(3). doi: 10.13057/biodiv/d120302.
- Putranto, H. D., Kusuda, S., Hashikawa, H., Kimura, K., Naito, H., & Doi, O. (2007). Fecal Progestins and Estrogens for Endocrine Monitoring of Ovarian Cycle and Pregnancy in Sumatran Orangutan (*Pongo abelii*). *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 12(2), 97–103. doi: 10.5686/jjzwm.12.97.
- Putranto, H. D., Kusuda, S., Ito, T., Terada, M., & Inagaki, K. (2007). Reproductive Cyclicity Based on Fecal Steroid Hormones and Behaviors in Sumatran Tigers, *Panthera tigris sumatrae*. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 12(2), 111–115. doi: 10.5686/jjzwm.12.111.
- Say, L., Devillard, S., Natoli, E., & Pontier, D. (2002). The mating system of feral cats (*Felis catus* L.) in a sub-Antarctic environment. *Polar Biology*, 25, 838–842. doi: 10.1007/s00300-002-0427-2.
- Schwarzenberger, F., Möstl, E., Palme, R., & Bamberg, E. (1996). Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science*, 42(1–4), 515–526. doi: 10.1016/0378-4320(96)01561-8.
- Schwarzenberger, J. C., & Gogarten, W. (2007). Anesthesia for patients with congenital heart disease undergoing non-cardiac surgery. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 42(11), 822–832. doi: 10.1055/s-2007-1003596.
- Shille, V. M., Munro, C., Farmer, S. W., & Papkoff, H. (1983). Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. *J. Reprod. Fertil.*, 69(1), 29–39. doi: 10.1530/jrf.0.0690029.
- Stewart, D. R., & Stabenfeldt, G. H. (1985). Relaxin activity in the pregnant cat. *Biol Reprod*, 32(4), 848–854. doi: 10.1095/biolreprod32.4.848.
- Touma, C., & Palme, R. (2005). Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. *Annals of the New York*



- Academy of Sciences, 1046(1), 54–74. doi: 10.1196/annals.1343.006.
- Trigo, T. C., Schneider, A., de Oliveira, T. G., Lehugeur, L. M., Silveira, L., Freitas T. R. O., & Eizirik, E. (2013). Molecular data reveal complex hybridization and a cryptic species of neotropical wild cat. *Curr Biol.*, 23(24), 2528–2533. doi: 10.1016/j.cub.2013.10.046.
- Umapathy, G., Kumar, V., Wasimuddin, Kabra, M., & Shivaji, S. (2013). Detection of pregnancy and fertility status in big cats using an enzyme immunoassay based on 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-one. *Gen Comp Endocrinol*, 180, 33–38. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.10.009.
- Wildt, D. E., Brown, J. L., & Swanson, W. F. (1998). Reproduction in cats. In: Knobil, E., Neill, J. (Eds.), *Encyclopedia of Reproduction*, 1st ed. Academic Press, New York, 497–510.
- Wilting, A., Buckley-Beason, V. A., Feldhaar, H., Gadau, J., O'Brien, S. J., & Eduard Linsenmair K. (2007). Clouded leopard phylogeny revisited: support for species recognition and population division between Borneo and Sumatra. *Front Zool.*, 4, 15. doi: 10.1186/1742-9994-4-15.